



Original Article

Evaluation of Antioxidant and α -glucosidase Inhibitory Activities of *Codonopsis javanica* (Blume) Hook. f. Thoms' Root Extract

Nguyen Thi Thuy, Ngo Ha Linh Trang, Nguyen Thi Thanh Binh, Bui Thanh Tung*

VNU School of Medicine and Pharmacy, 144 Xuan Thuy, Cau Giay, Hanoi, Vietnam

Received 06 August 2020

Revised 26 August 2020; Accepted 31 August 2020

Abstract: This study aims to evaluate the antioxidant ability and α -glucosidase inhibitory activities of *Codonopsis javanica* extract to elucidate its mechanism in the treatment of diabetes type 2. The roots of *Codonopsis javanica* were extracted with ethanol solvents and fractionated with *n*-hexane, ethyl acetate and butanol solvents. The total extract and the fractions were evaluated for free radical scavenging by 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method and α -glucosidase inhibitory activity *in vitro*. The study results show that ethyl acetate fraction from *Codonopsis javanica* roots had the strongest antioxidant activity with a value of IC_{50} of $80.6 \pm 2.8 \mu\text{g/mL}$ and a strong α -glucosidase enzyme inhibitory activity with a value of IC_{50} of $80.4 \pm 5 \mu\text{g/mL}$. These data suggest that ethyl acetate fraction from *Codonopsis javanica* roots may have potential for the prevention and treatment of diabetes type 2.

Keywords: *Codonopsis javanica*, diabetes type 2, α -glucosidase, antioxidant ability, fraction.

* Corresponding author.

E-mail address: tungasia82@gmail.com

<https://doi.org/10.25073/2588-1132/vnumps.4267>

Nghiên cứu tác dụng chống oxy hóa và ức chế enzym α -glucosidase của cao chiết rễ Hồng Đăng Sâm (*Codonopsis javanica* (Blume) Hook. f. Thoms)

Nguyễn Thị Thúy, Ngô Hà Linh Trang, Nguyễn Thị Thanh Bình, Bùi Thanh Tùng*

Khoa Y Dược, Đại học Quốc gia Hà Nội, 144 Xuân Thủy, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

Nhận ngày 06 tháng 8 năm 2020

Chỉnh sửa ngày 26 tháng 8 năm 2020; Chấp nhận đăng ngày 31 tháng 8 năm 2020

Tóm tắt: Stress oxy hóa là nguyên nhân gây ra các biến chứng mạch máu trong bệnh tiểu đường loại 2. Enzym α -Glucosidase là enzym thủy phân các phân tử đường đôi, làm tăng tốc độ hấp thu glucose và làm tăng nồng độ glucose trong máu. Hồng đăng sâm (*Codonopsis javanica*) đã được sử dụng trong y học cổ truyền với tác dụng hạ đường huyết. Mục đích của nghiên cứu này là đánh giá tác dụng chống oxy hóa và ức chế enzym α -glucosidase của cao chiết rễ Hồng đăng sâm nhằm làm rõ cơ chế của dược liệu này trong hỗ trợ điều trị bệnh đái tháo đường. Rễ Hồng đăng sâm được chiết bằng dung môi ethanol và tiếp tục chiết các phân đoạn bằng dung môi *n*-hexan, ethyl acetat và *n*-butanol. Cao chiết toàn phần và các phân đoạn được đánh giá khả năng quét gốc tự do bằng phương pháp DPPH và tác dụng ức chế α -glucosidase *in vitro*. Kết quả cho thấy phân đoạn ethyl acetat của cao chiết rễ Hồng đăng sâm có hoạt tính chống oxy hóa mạnh nhất với giá trị IC_{50} là $80,6 \pm 2,8$ μ g/mL. Ngoài ra, phân đoạn này cũng có tác dụng ức chế enzym α -glucosidase mạnh với giá trị IC_{50} là $80,4 \pm 5$ μ g/mL. Kết quả nghiên cứu cho thấy phân đoạn ethyl acetat của cao chiết rễ Hồng Đăng Sâm có tiềm năng trong phòng ngừa và điều trị bệnh tiểu đường loại 2.

Từ khóa: Đái tháo đường loại 2, Hồng Đăng Sâm, α -glucosidase, tác dụng chống oxy hóa, chiết xuất phân đoạn.

1. Mở đầu

Đái tháo đường (ĐTĐ) loại 2 đang ngày một tăng về tỷ lệ cũng như mức độ ảnh hưởng đến các vấn đề sức khỏe khác, là một trong những nguyên nhân gây tử vong hàng đầu, gây ra nhiều biến chứng trầm trọng và ảnh hưởng lớn đến chất lượng cuộc sống [1]. Mặc dù có nhiều tiến bộ trong điều trị bệnh tiểu đường bằng các thuốc tân dược đường uống, việc nghiên cứu và phát triển thuốc mới vẫn đang được tiếp tục vì các thuốc hiện nay có tác dụng phụ gây ra cho người bệnh.

Xu hướng quay về với thiên nhiên, tìm tòi, phát triển thuốc Đông y hoặc thuốc Y học cổ truyền ngày càng được chú trọng nhiều hơn khi kết hợp với sự tiên bộ của khoa học kỹ thuật và y học. Dược liệu có đặc điểm là chứa lượng lớn các hợp chất tự nhiên có tác dụng chống oxy hóa và ức chế enzym α -glucosidase. Các gốc tự do gây ra trình trạng oxy hóa quá mức, gây tổn thương tuyến tụy và ảnh hưởng đến quá trình sinh tổng hợp, giải phóng insulin [2]. Enzym α -glucosidase tham gia vào bước cuối cùng của quá trình tiêu hóa. Vì vậy, các chất ức chế enzym

* Tác giả liên hệ.

Địa chỉ email: tungasia82@gmail.com

<https://doi.org/10.25073/2588-1132/vnumps.4267>

α -glucosidase làm giảm quá trình hấp thu glucose sau bữa ăn [3]. Đây là hai đích thường được sử dụng khi nghiên cứu các tác dụng của dược liệu hỗ trợ điều trị bệnh ĐTD.

Hồng đằng sâm (*Codonopsis javanica* (Blume) Hook. f. Thoms) là một vị thuốc cổ truyền được sử dụng phổ biến tại nhiều nước châu Á như Trung Quốc, Nhật Bản,... [4]. Từ nhiều loài thuộc chi *Codonopsis* như *C. lanceolata*, *C. pilosula*, *C. ussuriensis*, *C. subglobosa* người ta đã chiết được các triterpen glycosid và các polysaccharid có tác dụng lên hệ miễn dịch giúp điều trị ung nhọt, cải thiện trí nhớ [5]. Ở Việt Nam, chi *Codonopsis* có 3-4 loài, trong đó loại Hồng đằng sâm Việt Nam *Codonopsis javanica* đã được sử dụng từ lâu trong dân gian với nhiều công dụng quý như điều hòa huyết áp, tăng cường sinh lực [6,7]. Các nghiên cứu phân lập các thành phần hóa học của rễ Hồng đằng sâm cho kết quả có nhiều nhóm chất quý từ tự nhiên như acid phenolic, flavonoid, alkaloid [6,7]. Một số nghiên cứu trên thế giới đã cho thấy Hồng đằng sâm có tác dụng chống viêm, kháng khuẩn và hạ đường huyết [5]. Tuy vậy, tại Việt Nam chưa có nhiều nghiên cứu chứng minh nhằm phát triển loại dược liệu này thành các sản phẩm hỗ trợ điều trị bệnh ĐTD. Vì vậy, nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá khả năng chống oxy hóa và ức chế enzym α -glucosidase của Hồng đằng sâm (*Codonopsis javanica* (Blume) Hook. f. Thoms).

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Hóa chất, dung môi

Acid ascorbic (99%, Sigma – Aldrich, Singapore); 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH, Sigma – Aldrich, Singapore); *p*-nitrophenyl- α -D-glucopyranosid (pNPG - Merck, Singapore); *p*-nitrophenol chuẩn (Merck, Singapore); α -glucosidase 0,9 U/ml (pha trong nước khử ion lạnh) (Sigma – Aldrich, Singapore); các dung môi ethanol, *n*-hexan (*n*-Hex), ethyl acetat (EtOAc), *n*-buthanol (*n*-BuOH), methanol (MeOH) (Trung Quốc) đạt TCCS.

2.2. Thiết bị

Cân phân tích AY 129 (Shimadzu – Nhật Bản); Máy siêu âm Ultrasonic Cleaners AC-150H (MRC – Israel); Máy cô quay chân không Rotavapor R-210 (Buchi – Đức); Máy khuấy từ gia nhiệt C-MAG HS 4 (IKA – Đức); Máy đo quang UV Agilent technologies Cary 60 (UV-VIS – Mỹ);

2.3. Đối tượng nghiên cứu

Rễ Hồng đằng sâm được thu mua vào tháng 8 năm 2018, tại Buôn Ma Thuột. Mẫu nghiên cứu được giám định thực vật học tại Bộ môn Dược liệu và Dược học cổ truyền, Khoa Y Dược với tên khoa học là *Codonopsis javanica* (Blume) Hook. f., họ Hoa chuông (*Campanulaceae*). Mẫu tiêu bản được lưu giữ tại Bộ môn Dược liệu và Dược học cổ truyền, Khoa Y Dược, Đại học Quốc gia Hà Nội.

2.4. Chuẩn bị mẫu

Rễ Hồng đằng sâm được rửa sạch, sấy khô lại trong lò sấy ở nhiệt độ 65°C trong 5 giờ. Sau đó đem rễ xay nhỏ và tiến hành chiết xuất theo phương pháp như sau: Rễ dược liệu được cắt nhỏ khoảng 1 cm (200 g) ngâm ngập trong ethanol 96%, chiết xuất bằng phương pháp siêu âm ở 50°C trong 30 phút, lặp lại 3 lần. Dịch chiết được lọc qua bông y tế và gộp lại, cô lại bằng máy cô quay chân không thu được cao chiết tổng ethanol. Phân tán một phần lượng cao vào nước cất theo tỷ lệ 1:1. Tiếp tục tiến hành chiết phân đoạn mẫu đó lần lượt với các dung môi có độ phân cực tăng dần là *n*-Hex, EtOAc và *n*-BuOH (mỗi dung môi chiết 3 lần, mỗi lần 100 mL). Cô quay thu căn dịch chiết từng phân đoạn đến khối lượng không đổi.

2.5. Phương pháp đánh giá tác dụng quét gốc tự do DPPH

Nguyên tắc: hợp chất DPPH có khả năng tạo ra gốc tự do bền trong dung dịch MeOH bão hòa. Khi phản ứng với các chất chống oxy hóa, dung dịch màu tím đỏ sẽ chuyển sang màu vàng cam, có độ hấp thụ cực đại ở bước sóng $\lambda = 517$ nm.

Cho chất thử vào dung dịch này, nếu chất có khả năng quét gốc tự do sẽ làm giảm cường độ hấp thụ ánh sáng của các gốc tự do DPPH. Đo hấp thụ tại bước sóng trên sẽ biết lượng DPPH còn lại sau phản ứng [8]. Đánh giá khả năng chống oxy hóa bằng giá trị hấp thụ ánh sáng của dung dịch thử nghiệm so với chất đối chứng.

Pha dung dịch DPPH có nồng độ 0,24 mg/mL trong dung môi MeOH.

- Mẫu thử: cao dược liệu được pha loãng trong dung môi MeOH bão hòa thành dãy nồng độ 31,25; 62,5; 125; 250; 500 và 1000 $\mu\text{g/mL}$ dùng cho thí nghiệm.

- Chất chuẩn dương acid ascorbic được hòa tan trong MeOH bão hòa thành dãy nồng độ 1; 5; 10; 20; 50 $\mu\text{g/mL}$.

Cách tiến hành

- Lấy 340 μL dung dịch DPPH trong MeOH, 100 μL dung dịch các mẫu thử đã được pha loãng và 560 μL MeOH trộn đều bằng micro pipet, bọc giấy bạc, ủ ở 25°C trong 15 phút.

- Song song với mỗi mẫu thử, tiến hành mẫu chứng với cùng điều kiện và thành phần.

- Tiến hành đo hấp thụ tại bước sóng $\lambda = 517$ nm. Tất cả các thí nghiệm được lặp lại 3 lần, lấy kết quả trung bình của 3 lần đo.

Thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Hoạt tính quét gốc tự do DPPH được đánh giá thông qua giá trị phần trăm ức chế (I%):

$$I\% = \frac{A_C - A_t}{A_C - A_0} \cdot 100$$

Trong đó:

$I\%$: Hoạt tính chống oxy hóa;

A_C : Độ hấp thụ của mẫu chứng;

A_t : Độ hấp thụ của mẫu thử;

A_0 : Độ hấp thụ của mẫu trắng (sử dụng methanol).

Xác định IC_{50} bằng phần mềm SigmaPlot 12 dựa trên đồ thị phần trăm ức chế (I%) theo nồng độ mẫu thử (C).

Tác dụng chống oxy hóa *in vitro* của dịch chiết được so sánh với chất chuẩn dương acid ascorbic.

2.6. Phương pháp đánh giá tác dụng ức chế enzym α -glucosidase *in vitro*

Phương pháp được dựa trên nguyên tắc: Enzym α -glucosidase xúc tác quá trình chuyển chất nền pNPG thành α -glucose và *p*-nitrophenol có màu vàng nhạt - hấp thụ cực đại tại $\lambda = 405$ nm. Chất kim hãm enzym làm cường độ hấp thụ ánh sáng của dung dịch giảm [9]. Dựa vào độ hấp thụ của dung dịch khi có hoặc không có mặt chất thử để suy ra phần trăm ức chế enzym. Sử dụng phần mềm SigmaPlot 12 để xác định IC_{50} .

Cách tiến hành

Hoạt tính ức chế enzym α -glucosidase được đánh giá theo phương pháp của Moradi-Afrapoli F. và cộng sự [10]. Cụ thể như sau:

- Chất thử được hòa tan trong dimethyl sulfoxid (DMSO), pha loãng trong đệm phosphate 10 mM (pH 6,8) và đưa 50 μL vào các giếng của khay 96 giếng để được nồng độ 256 $\mu\text{g/mL}$, 64 $\mu\text{g/mL}$, 16 $\mu\text{g/mL}$; 4 $\mu\text{g/mL}$.

- Thêm vào mỗi giếng 20 μL α -glucosidase (0,5 U/mL) và 130 μL đệm phosphate 100 mM (pH 6,8), trộn đều và ủ ở 37°C trong 15 phút.

- Thêm vào từng giếng cơ chất pNPG, ủ tiếp ở 37°C trong 60 phút.

- Dĩa thí nghiệm chỉ có chất thử, đệm phosphate và pNPG được sử dụng làm chất chứng trắng (blank). Giếng thí nghiệm chỉ có DMSO 10%, đệm phosphate, enzym và pNPG được sử dụng làm đối chứng. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần để đảm bảo sự chính xác.

- Dùng thí nghiệm bằng cách thêm 80 μL Na_2CO_3 0,2M vào và đo độ hấp thụ quang-(A) bằng máy đo ELISA Plate Reader (Bio-Rad) ở bước sóng $\lambda = 405$ nm.

Công thức đánh giá khả năng ức chế enzym α -glucosidase của mẫu thử:

$$I\% = \frac{A_C - A_t}{A_C - A_0} \cdot 100$$

Trong đó:

$A_C = A_{\text{đối chứng}} = A_{\text{đối chứng}} - A_{\text{mẫu trắng đối chứng}}$

$A_t = A_{\text{mẫu thử}} = A_{\text{mẫu thử}} - A_{\text{mẫu trắng thử}}$

Giá trị IC₅₀ được tính dựa vào đồ thị và phương trình biểu diễn % ức chế enzym α -glucosidase theo nồng độ của cao toàn phần và các phân đoạn dịch chiết từ rễ Hồng đẳng sâm.

2.7. Xử lý số liệu

Các số liệu được lưu trữ và phân tích xử lý dữ liệu theo phương pháp thống kê sinh học trên máy vi tính bằng phần mềm Microsoft Office Excel 2016 và phần mềm SigmaPlot 12 (Systat Software, Inc, Mỹ).

3. Kết quả

3.1. Quy trình chiết xuất và phân đoạn dịch chiết của cao rễ Hồng đẳng sâm

Rễ cây Hồng đẳng sâm (200g) sau khi sấy khô, cắt nhỏ và chiết xuất 3 lần với ethanol 96% thì thu được 12,32g cao. Hiệu suất chiết đạt

6,16%. Giữ lại 2,32g cao ethanol để đánh giá khả năng chống oxy hóa và ức chế enzym α -glucosidase *in vitro*, lấy 10 g còn lại hòa tan vào nước cất và chiết lần lượt với *n*-Hex, EtOAc, *n*-BuOH, cô quay đến khối lượng không đổi thu được các phân đoạn như sau: 1,12 g cao *n*-Hex; 4,56 g cao EtOAc và 4,15 g cao *n*-BuOH

3.2. Đánh giá tác dụng chống oxy hóa của các phân đoạn dịch chiết rễ Hồng đẳng sâm theo phương pháp DPPH

Tác dụng chống oxy hóa *in vitro* theo phương pháp DPPH của cao toàn phần và các phân đoạn dịch chiết từ rễ Hồng đẳng sâm được thí nghiệm tại các nồng độ 31,25; 62,5; 125; 250; 500 và 1000 μ g/mL. Acid ascorbic là chất chứng dương được sử dụng trong thí nghiệm. Giá trị phần trăm ức chế I (%) của cao chiết toàn phần và các phân đoạn cao chiết ở nồng độ khác nhau từ rễ Hồng đẳng sâm và Acid ascorbic được trình bày ở Bảng 1.

Bảng 1. Khả năng chống oxy hóa *in vitro* của dịch chiết toàn phần và các phân đoạn dịch chiết cao rễ Hồng đẳng sâm và chất đối chứng ở các nồng độ khác nhau.

Phân đoạn	% ức chế tại các nồng độ (μ g/mL)						Giá trị IC ₅₀ (μ g/mL)
	1000	500	250	125	62,5	31,25	
Ethanol	92,78 ± 3,2	75,36 ± 1,9	59,63 ± 2,3	43,25 ± 1,6	23,54 ± 0,9	10,24 ± 0,4	186,5 ± 7,4
<i>n</i> -Hex	79,46 ± 2,1	57,36 ± 2,2	48,25 ± 1,7	31,25 ± 1,1	14,6 ± 0,5	7,84 ± 0,2	294,7±10,2
EtOAc	97,58 ± 3,3	86,45 ± 2,2	76,24 ± 1,9	65,87 ± 1,6	46,35 ± 1,5	35,25 ± 1,2	80,6 ± 2,8
<i>n</i> -BuOH	85,7 ± 1,9	74,6 ± 2,0	60,5 ± 2,1	45,8 ± 1,5	30,7 ± 0,9	12,9 ± 0,3	159,2 ± 9,1
Chất đối chứng	% ức chế tại các nồng độ (μ g/mL)					Giá trị IC ₅₀ (μ g/mL)	
	50	20	10	5	1		
Acid ascorbic	85,68 ± 2,4	52,42 ± 1,4	36,58 ± 0,8	21,2 ± 0,5	5,33 ± 0,2	17,2 ± 1,4	

Kết quả từ Bảng 1 cho thấy tác dụng chống oxy hóa *in vitro* tăng dần theo nồng độ. Dịch chiết ethanol toàn phần từ rễ Hồng đẳng sâm thể hiện tác dụng chống oxy hóa *in vitro* với giá trị IC₅₀ tính được là 186,5 ± 7,4 μ g/mL. Trong các phân đoạn dịch chiết, phân đoạn EtOAc thể hiện

tác dụng chống oxy hóa *in vitro* mạnh nhất với I% ở nồng độ cao nhất 1000 μ g/mL là 97,58 %, giá trị IC₅₀ tính được là 80,6 ± 2,8 μ g/mL. Tiếp theo là phân đoạn *n*-BuOH với giá trị I% đạt 85,7 % ở nồng độ cao nhất 1000 μ g/mL, giá trị IC₅₀ tính được là 159,2 ± 9,1 μ g/mL. Phân đoạn *n*-

Hex thể hiện tác dụng chống oxy hóa yếu nhất với giá trị IC_{50} tính được là $294,7 \pm 10,2 \mu\text{g/mL}$. Song song với các mẫu thử, tiến hành tương tự với mẫu chứng dương acid ascorbic cho thấy tác dụng chống oxy hóa *in vitro* của acid ascorbic hoạt động ổn định trong thí nghiệm, có giá trị IC_{50} là $17,2 \pm 1,4 \mu\text{g/mL}$.

Kết quả tác dụng ức chế enzym α -glucosidase *in vitro* của các phân đoạn dịch chiết rễ Hồng đẳng sâm

Tác dụng ức chế enzym α -glucosidase *in vitro* của cao toàn phần và các phân đoạn dịch chiết từ rễ Hồng đẳng sâm được thí nghiệm tại các nồng độ 31,25; 62,5; 125; 250; 500 và 1000 $\mu\text{g/mL}$. Acarbose là chất chứng dương được sử dụng trong thí nghiệm. Giá trị phần trăm ức chế I (%) của cao chiết toàn phần và các phân đoạn cao chiết ở nồng độ khác nhau từ rễ Hồng đẳng sâm và chất đối chứng dương được trình bày ở Bảng 2.

Bảng 2. Khả năng ức chế enzym α -glucosidase *in vitro* của cao toàn phần, các phân đoạn dịch chiết rễ Hồng đẳng sâm và chất đối chứng ở các nồng độ khác nhau.

Phân đoạn	% ức chế tại các nồng độ ($\mu\text{g/mL}$)						Giá trị IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
	1000	500	250	125	62,5	31,25	
Ethanol	95,23 $\pm 3,6$	80,23 $\pm 2,9$	69,25 $\pm 2,5$	51,24 $\pm 1,8$	39,25 $\pm 1,3$	25,14 $\pm 0,8$	99,5 \pm 4,8
<i>n</i> -Hex	68,25 $\pm 2,6$	58,25 $\pm 1,9$	49,2 $\pm 1,4$	32,12 $\pm 1,1$	15,23 $\pm 0,4$	8,25 $\pm 0,3$	291,4 \pm 8,7
EtOAc	98,25 $\pm 3,5$	84,23 $\pm 2,3$	73,51 $\pm 2,0$	62,32 $\pm 1,8$	42,17 $\pm 1,3$	32,36 $\pm 1,0$	80,4 \pm 5,9
<i>n</i> -BuOH	86,3 $\pm 3,0$	75,6 $\pm 2,5$	63,5 $\pm 2,4$	46,3 $\pm 1,3$	32,6 $\pm 0,9$	15,6 $\pm 0,5$	129,6 \pm 6,2
Chất đối chứng	% ức chế tại các nồng độ ($\mu\text{g/mL}$)					Giá trị IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	
	50	20	10	5	1		
Acarbose	85,68 $\pm 3,2$	52,42 $\pm 1,3$	36,58 $\pm 1,2$	21,2 $\pm 0,8$	5,33 $\pm 0,1$	156,8 \pm 2,8	

Kết quả từ Bảng 2 cho thấy khả năng ức chế enzym α -glucosidase *in vitro* tăng dần theo nồng độ. Dịch chiết ethanol toàn phần, phân đoạn EtOAc và *n*-BuOH từ rễ Hồng đẳng sâm có giá trị IC_{50} lần lượt là $99,5 \pm 4,8 \mu\text{g/mL}$, $80,4 \pm 5,9 \mu\text{g/mL}$, $129,6 \pm 6,2 \mu\text{g/mL}$, thể hiện tác dụng ức chế enzym α -glucosidase tốt hơn cả mẫu chứng Acarbose (giá trị IC_{50} là $156,8 \pm 2,8 \mu\text{g/mL}$). Trong các phân đoạn dịch chiết, phân đoạn EtOAc thể hiện tác dụng chống oxy hóa *in vitro* mạnh nhất với I% ở nồng độ cao nhất 1000 $\mu\text{g/mL}$ là 98,25%. Phân đoạn *n*-Hex thể hiện tác dụng chống oxy hóa *in vitro* yếu nhất với giá trị IC_{50} tính được là $291,4 \pm 8,7 \mu\text{g/mL}$. Song song với các mẫu thử, tiến hành tương tự với mẫu chứng dương Acarbose cho thấy tác dụng ức chế enzym α -glucosidase *in vitro* của Acarbose hoạt động ổn định trong thí nghiệm.

4. Bàn luận

Hiện nay, ĐTĐ là bệnh lý gây ra ảnh hưởng lên nhiều vấn đề sức khỏe khác, phát sinh ra nhiều biến chứng trầm trọng, ảnh hưởng lớn đến chất lượng cuộc sống và là một trong những nguyên nhân gây tử vong hàng đầu. Số lượng người mắc ĐTĐ tăng gấp đôi trong vòng 3 thập kỷ gần đây và đang ngày càng trẻ hóa qua từng năm. Bệnh ĐTĐ gây nên nhiều biến chứng nguy hiểm, là nguyên nhân hàng đầu gây bệnh tim mạch, mù lòa, suy thận, và cắt cụt chi [1]. Các nhà khoa học trên thế giới vẫn đang nỗ lực tìm kiếm các phương pháp phòng và điều trị hiệu quả bệnh ĐTĐ, ngăn ngừa các biến chứng và nâng cao chất lượng cuộc sống. Nhiều nghiên cứu chứng minh các loại thảo dược có tác dụng hạ glucose máu, nhất là các dược liệu có khả năng

chống oxy hóa và ức chế enzym α -glucosidase. Rễ Hồng đẳng sâm có tác dụng dược lý rất tốt, được sử dụng nhiều trong y học cổ truyền. Hồng đẳng sâm thường được dùng để bồi bổ sức khỏe, dùng như một loại thuốc bổ, giúp bổ tỳ, ích khí, thanh tân chỉ khát [5].

Oxy hóa là quá trình xảy ra phản ứng hóa học, khi mà các electron chuyển thành chất oxy hóa, hình thành nên gốc tự do. Sự gia tăng các gốc tự do sinh ra các phản ứng dây chuyền, dẫn đến phá hủy tế bào cơ thể. Các gốc tự do là trạng thái cấu trúc của phân tử có một điện tích lẻ ở quỹ đạo điện tử ngoài cùng, bao gồm các nguyên tử, phân tử, ion, electron chưa ghép cặp. Chúng rất không ổn định và tạo phản ứng hóa học với các phân tử khác. Các dạng hoạt động của gốc tự do là ROS (Oxy hoạt tính), RNS (Nitrogen hoạt tính), RSS (Sulfur hoạt tính) [11,12]. Các gốc tự do rất kém ổn định, có khả năng phản ứng cao với các chất, thời gian tồn tại ngắn phụ thuộc vào bản chất và điều kiện của hệ mà nó tồn tại [12,13].

Trong bệnh ĐTĐ, quá trình tăng glucose huyết của cơ thể sản sinh ra nhiều gốc tự do làm suy yếu hệ thống phòng thủ chống oxy hóa nội sinh [14]. Do đó, việc sử dụng các chất chống oxy hóa để phòng ngừa và làm suy giảm các triệu chứng của bệnh ĐTĐ là một biện pháp thường được cân nhắc sử dụng. Phương pháp quét gốc tự do DPPH được sử dụng rộng rãi để đánh giá khả năng chống oxy hóa *in vitro* do có nhiều ưu điểm hơn các phương pháp khác. Kết quả nghiên cứu này cho thấy tác dụng chống oxy hóa bằng phương pháp thu dọn gốc tự do DPPH của cao chiết toàn phần và các phân đoạn của rễ Hồng đẳng sâm phụ thuộc vào nồng độ: khi nồng độ cao chiết tăng thì tác dụng quét các gốc tự do cũng tăng theo. Cao chiết phân đoạn EtOAc của rễ Hồng đẳng sâm có khả năng quét gốc tự do DPPH cao nhất với IC_{50} là $80,6 \pm 2,8 \mu\text{g/mL}$.

Kết quả đánh giá tác dụng chống oxy hóa của Hồng đẳng sâm trong nghiên cứu này cũng tương đồng với các nghiên cứu trên thế giới đối với các loài cùng chi *Codonopsis*. Sang-Min Jeon và cộng sự có nghiên cứu về tác dụng chống oxy hóa *in vitro* của trên 1 loài khác của chi *Codonopsis* là *Codonopsis lanceolata*. Kết quả cho thấy chiết cao áp và hấp bằng quá trình lên

men có hiệu quả hơn so với cách chiết xuất thông thường [15]. Chang-Seon Yoo và Sung-Jin Kim cũng chứng minh được dịch chiết MeOH của *Codonopsis pilosula* có tác dụng chống oxy hóa *in vivo* rõ rệt thông qua ức chế quá trình oxy hóa iNOS và protein [16]. Judy Yuet-Wa Chan và cộng sự đã nghiên cứu tác dụng chống ĐTĐ và chống oxy hóa trên mô hình chuột mắc bệnh tiểu đường của hỗn hợp SR10 gồm rễ *Astragali*, rễ *Codonopsis* và *Cortex Lycii*. Kết quả cho thấy hỗn hợp SR10 có hiệu quả trong việc giảm mức đường huyết trong điều trị mãn tính bằng cách cải thiện chức năng tế bào beta. Các hoạt động và biểu hiện của các enzym chống oxy hóa, catalase và superoxide dismutase đều tăng lên khi được điều trị bằng hỗn hợp SR10. Hơn nữa, hỗn hợp SR10 không cho thấy bất kỳ độc tính nào trên cơ thể [17].

Enzym α -glucosidase là enzym nằm trong màng đường ruột, tham gia vào bước cuối của quá trình tiêu hóa. Enzym này xúc tác cho quá trình phân hủy các đường disaccaride như sucrose hay maltose thành monosaccharide như glucose, do đó các chất ức chế enzym này sẽ làm giảm quá trình hấp thu đường từ cơ quan tiêu hóa vào máu [9,18]. Cơ chế hoạt động của enzym α -glucosidase như sau: glucose được cung cấp bởi carbohydrat chứa trong thức ăn. Sau khi vào cơ thể, carbohydrat được các enzym ở tụy (α -amylase) và ruột non (α -glucosidase) tiết ra, thủy phân thành những phân tử đường đơn rồi thẩm thấu vào máu, tỏa ra để nuôi các tế bào cơ thể. Enzym α -glucosidase có chức năng xúc tác việc cắt đứt liên kết 1,4- α -D-glucosid của cơ chất để giải phóng α -D-glucose [19]. Có thể làm giảm sự thủy phân carbohydrat và chậm sự thẩm thấu glucose vào máu bằng việc kiểm soát hoạt động của enzym α -glucosidase [20]. Các chất ức chế enzym α -glucosidase được sử dụng làm thuốc tân dược như acarbose, voglibose, ... thường gây nên một số tác dụng không mong muốn như đau bụng, tiêu chảy,... Trong nghiên cứu này, acarbose được sử dụng làm chất đối chứng dương để đánh giá khả năng ức chế enzym α -glucosidase. Kết quả nghiên cứu của đề tài cho thấy cao chiết ethanol toàn phần, phân đoạn EtOAc và *n*-BuOH của rễ Hồng đẳng sâm có tác

dụng ức chế enzym α -glucosidase mạnh so với chứng dương acarbose. Ngoài ra, tác dụng ức chế enzym α -glucosidase *in vitro* của cao chiết toàn phần và cao chiết các phân đoạn của rễ Hồng đẳng sâm cũng phụ thuộc vào nồng độ. Kết quả nghiên cứu cao chiết của rễ *C. Javanica* của chúng tôi cũng tương đồng với các nghiên cứu trước đây ở những loài cùng chi *Codonopsis*. Kai He và cộng sự chứng minh được rằng *Codonopsis pilosula* có khả năng hạ đường huyết ở chuột bị tiểu đường do streptozotocin bằng việc ức chế tốt enzym α -glucosidase [21]. Suk Whan Jung và cộng sự cũng nghiên cứu trên rễ của *Codonopsis lanceolata* có chứa 2 hợp chất tangshenoside và β -adenosine có tác dụng ức chế α -glucosidase *in vitro* yếu với IC_{50} lần là 1,4 và 9,3 mM [22]. Một số hợp chất được phân lập từ rễ Hồng đẳng sâm có tiềm năng điều trị ĐTĐ và các bệnh mắc kèm do stress oxy hóa gây ra. Taraxerol, β -sitosterol, α -spinasterol được chứng minh là có tác dụng chống ĐTĐ cũng như chống oxy hóa và có thể được xem xét nghiên cứu lâm sàng để phát triển thuốc điều trị bệnh tiểu đường và các biến chứng do tiểu đường gây ra như bệnh thận trong ĐTĐ [23; 24]. Ngoài ra, Abdullateef Isiaka Alagbonsi và cộng sự cho thấy adenosine có thể là mục tiêu điều trị trong điều trị bệnh tiểu đường tuýp 1 do khả năng hạ đường huyết của nó ở cả chuột mắc và không mắc bệnh tiểu đường [25]. Ayman Mahmoud và cộng sự chứng minh hesperidin đóng vai trò đầy hứa hẹn trong điều trị bệnh tiểu đường và các biến chứng của nó nhờ tác dụng điều hòa đối với chất vận chuyển glucose, bài tiết và độ nhạy insulin, stress oxy hóa, quá trình viêm, hấp thu glucose ngoại biên, hấp thu glucose ở ruột và sản xuất glucose ở gan [26].

5. Kết luận

Nghiên cứu đã đánh giá được tác dụng chống oxy hóa và tác dụng ức chế enzym α -glucosidase *in vitro* của cao toàn phần và các phân đoạn dịch chiết từ rễ Hồng đẳng sâm. Kết quả thu được cho thấy phân đoạn EtOAc có tác dụng chống oxy hóa cao nhất với giá trị IC_{50} là $80,6 \pm 2,8 \mu\text{g/mL}$. Ngoài ra, phân đoạn EtOAc có tác dụng ức chế enzym α -glucosidase *in vitro* tốt nhất với giá trị

IC_{50} là $80,4 \pm 5 \mu\text{g/mL}$ so với các phân đoạn dịch chiết khác. Kết quả thu được giúp định hướng nghiên cứu sâu hơn về thành phần hóa học của rễ Hồng đẳng sâm, nhất là phân đoạn dịch chiết EtOAc, nhằm phân tách, tinh chế được các hoạt chất có tiềm năng trong điều trị ĐTĐ type 2.

Tài liệu tham khảo

- [1] B.Y. Te. Guidelines for the diagnosis and treatment of type 2 diabetes, 2017.
- [2] U. Asmat, K. Abad, K. Ismail. Diabetes mellitus and oxidative stress-A concise review. Saudi pharmaceutical journal 24(5) (2016) 547.
- [3] D.K. Thu, V.M. Hung, N.T. Trang, B.T. Tung. Study on α -glucosidase enzyme inhibitory activity and DPPH free radical scavenging of green coffee bean extract (*Coffea canephora*). VNU Journal of Science: Medical and Pharmaceutical Sciences 35(2) (2019).
- [4] C.Y. Li, H.X. Xu, Q.B. Han, T.S. Wu. Quality assessment of Radix Codonopsis by quantitative nuclear magnetic resonance. Journal of Chromatography A 1216(11) (2009) 2124.
- [5] S.M. Gao, J.S. Liu, M. Wang, T.T. Cao, Y.D. Qi, B.G. Zhang, et al. Traditional uses, phytochemistry, pharmacology and toxicology of Codonopsis: A review. Journal of ethnopharmacology 219(2018) 50.
- [6] T.T. Ha, H.V. Oanh, D.T. Ha. Chemical constituents of the n-butanol fractions from the roots of Vietnamese Codonopsis javanica (Blume) Hook.f. Journal of Pharmacy 56(4) (2016).
- [7] T.T. Ha, N.M. Khoi, N.T. Ha, N.V. Nghi, D.T. Ha. Chemical Constituents from Roots of Codonopsis javanica (Blume) Hook.f. Journal of Medicinal Materials 19(2014) 211.
- [8] B.T. Tung, D.K. Thu, N.T.K. Thu, N.T. Hai. Antioxidant and acetylcholinesterase inhibitory activities of ginger root (*Zingiber officinale* Roscoe) extract. Journal of Complementary and Integrative Medicine 14(4) (2017).
- [9] B.T. Tung, D.K. Thu, P.T. Hai, N.T. Hai. Evaluation of α -glucosidase inhibitory effects of Pomegranate fruit extracts (*Punica granatum* Linn). Journal of Traditional Vietnamese Medicine and Pharmacy 5(18) (2018) 59.
- [10] F. Moradi-Afrapoli, B. Asghari, S. Saeidnia, Y. Ajani, M. Mirjani, M. Malmir, et al. In vitro α -glucosidase inhibitory activity of phenolic constituents from aerial parts of Polygonum

- hyrcanicum. DARU Journal of Pharmaceutical Sciences 20(1) (2012) 37.
- [11] D.T. Bao. Free radicals. Journal of Pharmacy 6((2001) 29.
- [12] M. Carocho, I.C. Ferreira. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. Food and chemical toxicology 51((2013) 15.
- [13] National Institute of Medicinal Materials. Method for studying the pharmacological effects of herbal drugs. Science and Technology Publishing House, 2006.
- [14] J.W. Baynes. Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. Diabetes 40(4) (1991) 405.
- [15] S.M. Jeon, S.Y. Kim, I.H. Kim, J.S. Go, H.R. Kim, J.Y. Jeong, et al. Antioxidant activities of processed Deoduck (*Codonopsis lanceolata*) extracts. Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition 42(6) (2013) 924.
- [16] C.S. Yoo, S.J. Kim. Methanol extract of *Codonopsis pilosula* inhibits inducible nitric oxide synthase and protein oxidation in lipopolysaccharide-stimulated raw cells. Tropical Journal of Pharmaceutical Research 12(5) (2013) 705.
- [17] J.Y.W. Chan, F.C. Lam, P.C. Leung, C.T. Che, K.P. Fung. Antihyperglycemic and antioxidative effects of a herbal formulation of *Radix Astragali*, *Radix Codonopsis* and *Cortex Lycii* in a mouse model of type 2 diabetes mellitus. Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives 23(5) (2009) 658.
- [18] S. Kumar, S. Narwal, V. Kumar, O. Prakash. α -glucosidase inhibitors from plants: A natural approach to treat diabetes. Pharmacognosy reviews 5(9) (2011) 19.
- [19] K. Tadera, Y. Minami, K. Takamatsu, T. Matsuoka. Inhibition of α -glucosidase and α -amylase by flavonoids. Journal of nutritional science and vitaminology 52(2) (2006) 149.
- [20] C.W. Choi, Y.H. Choi, M.-R. Cha, D.S. Yoo, Y.S. Kim, G.H. Yon, et al. Yeast α -glucosidase inhibition by isoflavones from plants of Leguminosae as an in vitro alternative to acarbose. Journal of agricultural and food chemistry 58(18) (2010) 9988.
- [21] K. He, X. Li, X. Chen, X. Ye, J. Huang, Y. Jin, et al. Evaluation of antidiabetic potential of selected traditional Chinese medicines in STZ-induced diabetic mice. Journal of ethnopharmacology 137(3) (2011) 1135.
- [22] S.W. Jung, A.J. Han, H.J. Hong, M.G. Choung, K.S. Kim, S.H. Park. α -glucosidase inhibitors from the roots of *Codonopsis lanceolata* Trautv. Agricultural Chemistry and Biotechnology 49(4) (2006) 162.
- [23] R. Gupta, A.K. Sharma, M. Dobhal, M. Sharma, R. Gupta. Antidiabetic and antioxidant potential of β -sitosterol in streptozotocin-induced experimental hyperglycemia. Journal of diabetes 3(1) (2011) 29.
- [24] R. Khanra, N. Bhattacharjee, T.K. Dua, A. Nandy, A. Saha, J. Kalita, et al. Taraxerol, a pentacyclic triterpenoid, from *Abroma augusta* leaf attenuates diabetic nephropathy in type 2 diabetic rats. Biomedicine & Pharmacotherapy 94((2017) 726.
- [25] A.I. Alagbonsi, T.M. Salman, H.M. Salahdeen, A.A. Alada. Effects of adenosine and caffeine on blood glucose levels in rats. Nigerian Journal of Experimental and Clinical Biosciences 4(2) (2016) 35.
- [26] A.M. Mahmoud, O.E. Hussein. Hesperidin as a promising anti-diabetic flavonoid: the underlying molecular mechanism. Int J Food Nutr Sci| Volume 3(3) (2014) 1.